

Universitas

Julio-Diciembre
de 2000

SCIENTIARUM

ISSN 0122-7483



$$-\int \frac{Gdm}{S^2} \cos \phi$$



Volumen

5



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD JAVERIANA
Revista de la Facultad de Ciencias



AVANCE EN EL DISEÑO DE UN PÉPTIDO BLOQUEADOR DEL RECEPTOR OPIOIDE KAPPA 2 HUMANO

Sonia Viviana Beltrán Velásquez, Diego Fajardo G., Adriana Hernández Morales, Mónica Bibiana Jiménez, Bernardo Mantilla, Paola Moya G., Eliana Patricia Palacios Morillo, Carolina París B., Javier Rodríguez Zuluaga, Juan Diego Rojas, Federico Sánchez Ojeda, Christian Suárez Franco, Álvaro Andrés Velásquez Álvarez, David X. E. Restrepo D.*

*Estudiantes de III y IV Semestres, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana
* Profesor, Departamento de Bioquímica y Nutrición, Pontificia Universidad Javeriana*

RESUMEN

Se evaluó la posibilidad de predecir una probable estructura secundaria para el Receptor Opiode Kappa 2 humano tomando como base la secuencia de aminoácidos del Receptor Opiode Kappa 1 humano. La estructura predicha mostró ser compatible con los datos que se poseen acerca de este tipo de receptores. Con esta prueba inicial, el proyecto que tiene como objetivo principal el diseñar un análogo peptico para el Receptor Opiode Kappa 2 humano, ha mostrado el nivel mínimo de viabilidad necesario para ser continuado.

ABSTRACT

It was evaluated the possibility of predicting a probable secondary structure for the Kappa 2 human opioid receptor; the prediction was based on the amino acids sequence of the Kappa 1 human opioid receptor.

The predicted structure showed to be compatible with the data available for this type of receptors. With this initial test, the project that has as principal objective to design an analog peptide for the Kappa 2 human opioid receptor, it has shown the minimal level of viability to be continued.

PALABRAS CLAVE: opioide, kappa 2, dopamina, diseño de proteínas.

INTRODUCCIÓN

Los receptores opiáceos han recibido una gran atención, por parte de los grupos que buscan caracterizar su papel en los variados efectos fisiológicos que pueden tener los medicamentos relacionados con estas proteínas. En el caso de los receptores opioides Kappa, aún existen hechos llamativos respecto a su clasificación: hasta ahora se ha logrado aislar un solo gen para estos receptores, a pesar de que los resultados de los estudios con radioligandos evidencian la

existencia de las dos subpoblaciones, Kappa 1 y Kappa 2. En un trabajo reciente, Childers, Xiao, Vogt y Sim (1998), mostraron que la combinación de bremazocina y U-50488H no produce una estimulación tan alta como la obtenida por cada agonista por aparte, llevándolos a concluir que estos dos ligandos parecen estar actuando sobre el mismo receptor.

Los trabajos que han servido como base para concluir que los receptores opioides pueden ser agrupados en diferentes subtipos, kappa, delta,

mu y sigma; reúnen la evidencia aportada por los distintos perfiles de actividad farmacológica de los modelos animales, frente a los prototipos de agonistas opioides: la morfina, la cetazonina y la N-alilnormetazocina (Corbett, McKnight y Henderson; 1999). Entre los receptores opioides, el subtipo Kappa, ha mostrado algunas características llamativas: Sershen, Hashim y Lajtha (1998), observaron algunas diferencias en el funcionamiento de los receptores opioides kappa y su relación con la actividad del receptor NMDA, entre ratones machos y ratones hembras. Otros trabajos (Sershen, H.; A. Hashim y A. Lajtha, 1996; Kuzmin, Semenova, Gerrits, Zvartau y Van Ree, 1997; Heidbreder, Schenk, Partridge y Shippenberg, 1998), han dejado ver algo de las intrincadas relaciones existentes entre los receptores opioides Kappa y la farmacodependencia o el funcionamiento de algunos neurotransmisores como la dopamina.

Existe una fuerte tendencia hacia la búsqueda de posibles tratamientos farmacológicos para el control de la dependencia física dependiente de la sobreexpresión de receptores opioides Kappa. Algunas investigaciones recientes (Pilotte, 1997; Staley; *et al.*, 1997; NIDA, 2000a), han mostrado que el activar o bloquear ciertos receptores cerebrales, como los opioides Kappa, puede ser una estrategia útil en el tratamiento del alcoholismo. Sin embargo, los datos disponibles no incluyen ninguna información concreta acerca de la estructura tridimensional de los receptores Kappa.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente informe de avance corresponde a un proyecto que tiene como objetivo general el diseñar un péptido bloqueador para el Receptor Opiode Kappa 2 humano, como alternativa para el tratamiento del alcoholismo y la dependencia física a fármacos. La realización de este proyecto se ha planeado en la siguiente forma:

1. Obtener la estructura tridimensional del Receptor Kappa 2 humano:

Debido a la trascendencia económica que conlleva la obtención de un péptido de esta

naturaleza, buena parte de la información concerniente al Receptor Kappa 2 humano se encuentra restringida al uso interno de los laboratorios que se hallan tras el diseño de este péptido, con fines comerciales. Por esto, nos hemos visto obligados a enfrentar el problema, prediciendo las estructuras secundaria y terciaria del Receptor Opiode Kappa 2 humano, en la siguiente forma:

- a. Seleccionando un receptor Kappa humano.
 - b. Prediciendo su estructura secundaria a partir de su secuencia.
 - c. Encontrando el sitio más probable de unión con el ligando.
 - d. Prediciendo la estructura terciaria del sitio más probable de unión con el ligando.
 - e. Reconstruyendo la estructura terciaria *aproximada* para este sitio de unión.
2. Diseñar un péptido que bloquee este sitio de unión.
 3. Probar el péptido diseñado.

Predicción de la estructura secundaria del Receptor Opiode Kappa 1 humano: se obtuvo una copia de la secuencia de aminoácidos del Receptor Opiode Kappa 1 humano, a partir de la base de datos llamada *Swissprot*, empleando para ello el programa *Entrez* ubicado en el Centro Nacional para la Información en Biotecnología, Estados Unidos (NCBI). La secuencia fue comparada contra todas las secuencias de aminoácidos de las proteínas conocidas, presentes en *Swissprot*, en busca de las más parecidas; esta comparación se hizo con el fin de confirmar la presunción de que las secuencias de aminoácidos de los receptores opioides son muy similares entre sí; para esto se empleó el programa *Blast* presente en el NCBI. Se realizó una predicción por consenso de la estructura secundaria del Receptor Opiode Kappa 1 humano, utilizando el programa *Jpred2*.

creemos que son necesarios algunos estudios adicionales que nos permitan predecir la orientación de estas hélices y la existencia de dominios transmembranales dentro de la secuencia. Pese a esto, al comparar la secuencia con la predicción, se puede ver cómo un considerable número de los aminoácidos alifáticos se hallan presentes en las hélices. Estos hechos nos llevan a pensar que es posible esperar una alta homología entre las secuencias de los receptores opioides del hombre y otras especies por lo tanto, es probable el hallar que las proteínas más semejantes en secuencia y estructura tridimensional básica, a la del receptor escogido, sean todas ellas receptores opioides, tal y como lo muestran los resultados de los alineamientos obtenidos con Blast. De ser cierta esta apreciación, será posible acercarse a la estructura terciaria del Receptor Opiode Kappa 2 a partir de la secuencia del Receptor Opiode Kappa 1.

CONCLUSIONES

Las semejanzas funcionales y de secuencia, existentes entre los receptores Kappa se pueden ver manifestadas como parte de la explicación de los resultados obtenidos al comparar la secuencia del Receptor Opiode Kappa 1 con las secuencias de las demás proteínas conocidas. Una primera aproximación a la búsqueda de una molécula proteica que se una al Receptor Opiode Kappa 2 humano, nos ha permitido caracterizar la posible estructura secundaria de un receptor homólogo a él. La estructura predicha parece corresponder a la organización general de los aminoácidos que integran los receptores opioides. Es necesario realizar otros análisis y predicciones para corroborar la afirmación anterior, así como para enriquecer los detalles estructurales del receptor investigado.

LECTURA CITADA

CHILDERS, S.R., XIAO R., VOGT L. y L.J. Sim Lack of evidence of kappa 2-selective activation of G-proteins: kappa opioid receptor stimulation of [35S] GTP gammaS binding in guinea pig brain. *Biochem-Pharmacol*, 1998, July 1, 56(1): 113-20.

CORBETT, A., MCKNIGHT S. y HENDERSON G. 1999. Opioid Receptors. *Pharmacological Reviews*, Tocris Cookson Inc, USA.

HEIDBREDER, C.A., SCHENK S., PARTRIDGE B. y T.S. Shippenberg increased responsiveness of mesolimbic and mesostriatal dopamine neurons to cocaine following repeated administration of a selective kappa-opioid receptor agonist. *Synapse*, 30(3): 255-62, 1998, november. Instituto Nacional sobre Drogadicción (NIDA); 2000a. Explicación del abuso de drogas y la drogadicción, Informe 12948, junio de 2000. Instituto Nacional sobre Drogadicción (NIDA); 2000b. Nuevas conclusiones en estudio de consumo de drogas y drogadicción, Comunicado de prensa, Washington, D.C., 16 de junio de 2000. Junta Internacional de Fiscalización de Estupefacientes; 2000. Informe correspondiente a 1999, Nueva York, 23 de febrero de 2000.

KUZMIN, AV., SEMENOVA S., GERRITS M.A., ZVARTAU E.E. y J.M. Van Ree Kappa-opioid receptor agonist U50, 488H modulates cocaine and morphine self-administration in drug-naive rats and mice. *Eur J Pharmacol*, 321(3): 265-71, 1997, Mar 5.

Pilotte, NS. Neurochemistry of cocaine withdrawal, *Curr-Opin-Neurol*. 1997, Dec; 10(6): 534-8.

SERSHEN, H., HASHIM A. y LAJTHA A. Effect of ibogaine on cocaine-induced efflux of [3H] dopamine and [3H] serotonin from mouse striatum. *Pharmacol Biochem Behav*, 53(4): 863-9 1996 April.

SERSHEN, H.; HASHIM A. y LAJTHA A. Gender differences in kappa-opioid modulation of cocaine-induced behavior and NMDA-evoked dopamine release. *Brain Res*, 801(1-2): 67-71 1998 August 10. SIMONIN F., GAVERIAUX-RUFFC., BEFORT K., MATTHESH., LANNES B., MICHELETTI G., MATTEI M.G., CHARRONG, BLOCH B, KIEFFER B. Kappa-Opioid receptor in humans: cDNA and genomic cloning, chromosomal assignment, functional expression, pharmacology, and expression pattern

in the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, July 18, 92(15): 7006-10. STALEY J.K.; ROTHMAN R.B.; RICE K.C.; PARTILLA J.; MASH D.C. 1997. Kappa2 opioid receptors in limbic areas of the human brain are upregulated by cocaine in fatal overdose victims, *J-Neurosci.* 1997, November 1; 17(21): 8225-33.

VOLKOW N.D.; WANG G.J.; FISCHMAN M.W.; FOLTIN R.W.; FOWLER J.S.; ABUMRAD N.N.; VITKUN S.; LOGAN J.; GATLEY S.J.; PAPPAS N.; HITZEMANN R.; SHEA C.E. Relationship between subjective effects of cocaine and dopaminetransporter occupancy. *Nature* 386: 827-830, 1997.